

*Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (Б03-019).*

#### *Литература*

1. Будагова К.Р., Жмасва С.В., Григорьев А.Н. и др. Флавоноид дигидрокверцетин в отличие от кверцетина не ингибирует экспрессию белка теплового шока в условиях клеточного стресса // Биохимия. – 2003. – Т. 68, № 9. – С. 1287-1294.
2. Малышев И.Ю., Малышева Е.В. Белки теплового шока и защита сердца // Бюл. exper. биол. и мед. – 1998. – Т. 126, № 12. – С. 604-611.
3. Glebov A.N., Zinchuk V.V. Blood oxygen-carrying function during the oxidative stress induced by lipopolysaccharide with a modification of the L-arginine-NO pathway // Annales Academiae Medicae Bialostocensis. – 2005. – Vol. 50. – P. 247-251.
4. Hosokawa N., Hirayoshi K., Kudo H. et al. Inhibition of the activation of heat shock factor in vivo and in vitro by flavonoids. // Mol. Cell. Biol. – 1992. - Vol. 12, № 8. – P. 3490-3498.
5. Severinghaus J.W. Blood gas calculator // J. Appl. Physiol. - 1966. - Vol. 21, № 5. - P. 1108-1116.
6. Yeh L.H., Alayash A.I. Redox side reactions of haemoglobin and cell signalling mechanisms // J. Intern. Med. – 2003. - Vol. 253, № 5. – P. 518-526.

### **ХАРАКТЕР УЧАСТИЯ СУПЕРОКСИД-АНИОНОВ В АУТОРЕГУЛЯЦИИ КОРОНАРНОГО ПОТОКА ПРИ ВВЕДЕНИИ ДИКЛОФЕНАКА**

**Дорошенко А.С., Лазуко С.С., Солодков А.П., Шебеко В.И.**

***УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет», Центральная  
научно-исследовательская лаборатория, Беларусь***

Регуляция сосудистого тонуса осуществляется благодаря сложному взаимодействию нервных гуморальных и локальных факторов. Эндотелийзависимые механизмы ауторегуляции коронарных сосудов имеют ключевое значение в поддержании адекватного кровотока в норме и при патологии. Это осуществляется благодаря тонкому балансу влияния дилататорных и констрикторных субстанций вырабатываемых эндотелием. В связи с этим в последние годы большое внимание уделяется изучению существующих в норме регуляторных взаимоотношений образуемых эндотелием модуляторов сосудистого тонуса. Так было показано, что в норме существует тесное взаимодей-

ствие между монооксидом азота продуцируемым NO-синтазой и супероксид-анионами которые в эндотелиальных клетках образуются в различных энзиматических путях, включающих ксантин оксидазу, НАДФН оксидазу, NO-синтазу, циклооксигеназу, простагландин H<sub>2</sub> синтазу и цитохром P450 [3,5]. Известно также, что система синтеза простагландинов, побочным продуктом которой является супероксид-анион, также имеет важное значение в ауторегуляции тонуса коронарных сосудов и поддержании адекватного кровоснабжения сердца [2,4]. Нам представляется интересным выяснить как изменяется роль супероксид-анионов и NO в регуляции тонуса коронарных сосудов при блокаде синтеза простагландинов диклофенаком.

Цель настоящего исследования – определить характер участия супероксид-анионов в регуляции тонуса коронарных сосудов в зависимости от их взаимодействия с монооксидом азота при введении диклофенака.

#### *Материал и методы исследования*

Опыты были выполнены на 16 крысах-самках линии Вистар, массой 180- 320 г. Коронарный поток изучали на препаратах изолированного по Лангендорфу сердца, перфузируемого в условиях постоянного давления и сокращающегося в спонтанном ритме. Сердце перфузировали раствором Кребса - Хензелята pH – 7,3-7,4; насыщенного карбогеном (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>) при температуре 37°C. Постоянную температуру поддерживали при помощи ультратермостата UTU-4 (Польша). Перфузат не рециркулировал, что позволяло поддерживать его состав постоянным на протяжении всего опыта.

Величину объемной скорости коронарного потока определяли по объему перфузионной жидкости, оттекающей через свободный правый и дренированный левый желудочки сердца за 10 секунд. Перфузия каждого изолированного сердца состояла из двух этапов. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса-Хензелята, а на втором этапе – этим же раствором, но с добавлением одного из ингибиторов или их сочетания (Табл.).

В ходе опыта перфузионное давление ступенчато повышали от 40 до 120 мм рт. ст. с шагом в 20 мм рт. ст. Коронарный расширительный резерв определяли как отношение между величиной коронарного потока, определенной после 60-ти секундного прекращения перфузии (максимальный гиперемический коронарный поток), и исходным потоком. Способность сосудов сердца суживаться в ответ на их растяжение увеличившимся внутрисосудистым давлением, оценивали по индексу ауторегуляции, предложенному Е.Б.Новиковой (1972) [1].

Для выявления роли супероксид-анионов и монооксида азота в регуляции тонуса коронарных сосудов в перфузионный раствор добавляли тирон (4,5-дигидрокси-1,3-бензенидисульфоновая кислота, 10 мМоль/л, Sigma USA) и метиловый эфир N-ω-нитро-L-аргинина (60 мМоль/л, Sigma USA) [2]. Для выяснения роли простагландинов в супероксид-анион опосредованной модуляции ауторегуляции коронарного потока интракоронарно вводили диклофенак (10 ммоль/л, Sigma USA).

Таблица

Вещества, добавляемые в раствор Кребса-Хензеляита на двух этапах перфузии изолированного сердца

Группы животных	Вещества, добавляемые в раствор Кребса-Хензеляита	
	во время первого подъема перфузионного давления от 40 до 120 мм рт.ст., с шагом в 20 мм рт.ст. (1 этап перфузии изолированного сердца)	во время повторного подъема перфузионного давления от 40 до 120 мм рт.ст., с шагом в 20 мм рт.ст. (2 этап перфузии изолированного сердца)
Контроль (n=8)	— (контроль)	Тирон
Диклофенак+тирон (n=4)	Диклофенак	Диклофенак+тирон
L-NAME+диклофенак+тирон (n=4)	L-NAME+диклофенак	L-NAME+диклофенак+тирон

Цифровой материал обработали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы "Statistica 6.0".

### *Результаты исследований и их обсуждение*

Добавление тирона в перфузионный раствор сопровождалось увеличением объемной скорости коронарного потока (ОСКП) на 32% при перфузионном давлении (ПД) 60-120 мм. рт. ст. (Рис.А), а также снижением индекса ауторегуляции в среднем на 40% и коронарного расширительного резерва на 30% при ПД 80 и 120 мм рт. ст. При этом, тирон не оказывал влияния на величину максимального гиперемического коронарного потока. Таким образом, влияние тирона проявлялось только в момент его введения и характеризовалось ослаблением ауторегуляции коронарного потока и снижением тонуса коронарных сосудов.

При интракоронарном введении диклофенака ОСКП увеличивалась в среднем на 67% при всех уровнях перфузионного давления (Рис.А). При этом индекс ауторегуляции снижался на 37%. Максимальный гиперемический коронарный поток несколько увеличивался.

Однако коронарный расширительный резерв уменьшался на 31%, что было связано со снижением базального тонуса коронарных сосудов.

Улавливание супероксид-аниона на фоне блокады синтеза простагландинов приводило к уменьшению ОСКП (Рис.А). Однако ее величина не достигала контрольных величин и оставалась увеличенной на 35%. При этом индекс ауторегуляции уменьшался по сравнению с контролем на 49%, максимальный гиперемический коронарный поток не изменялся, коронарный расширительный резерв уменьшался на 27% при ПД 80 и 120 мм рт. ст.

При интракоронарном введении диклофенака на фоне блокады синтеза NO, ОСКП снижалась в той же степени, как и под влиянием только L-NAME, то есть на 30% (Рис.Б). Индекс ауторегуляции уменьшался на 27%. Максимальный гиперемический коронарный поток не изменялся, а коронарный расширительный резерв снижался на 38%. Таким образом, введение диклофенака после блокады синтеза монооксида азота полностью устраняло его вазодилатирующий эффект, что может свидетельствовать о важной роли NO в развитии его коронародилататорного действия.

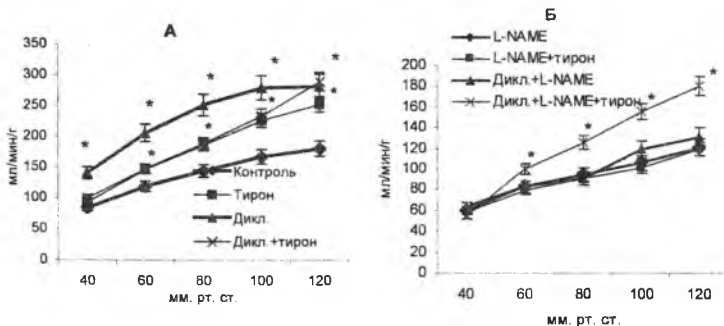


Рис. Влияние блокады синтеза простагландинов диклофенаком (А) и его сочетания с блокадой синтеза монооксида азота L-NAME (Б) на эффективность действия тирона на объемную скорость коронарного потока изолированного сердца крыс. Примечание: \*- $p < 0,05$  по сравнению с контролем, \*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с предыдущим этапом перфузии.

Улавливание супероксид-аниона на фоне блокады синтеза простагландинов и монооксида азота, в отличие от опытов с использованием только блокатора синтеза простагландинов, сопровождалось увеличением ОСКП в среднем на 44% (Рис.Б). Максимальный гиперемический коронарный поток и коронарный расширительный резерв оставались сниженными на 44% и 48% соответственно.

Таким образом, подавление синтеза простагландинов, образующихся в эндотелиоцитах и гладкомышечных клетках, сопровождается снижением тонуса и расширением коронарных сосудов. Следовательно, можно заключить, что в стенке коронарных сосудов крысы, в основном, образуются простагландины, обладающие вазоконстрикторными свойствами. При подавлении их синтеза нарушается динамическое равновесие между образующимися в клетках сосудистой стенки вазодилататорами (NO, простаглицлин, эндотелиальный фактор гиперполяризации) и вазоконстрикторами (простагландины, лейкотриены, супероксид-анионы и др.). Тот факт, что после блокады синтеза монооксида азота диклофенак не оказал влияния на ОСКП свидетельствует о важной роли NO в дилатации коронарных сосудов, наблюдаемой при блокаде синтеза простагландинов.

Введение тирона в интактное изолированное сердце приводит к обусловленному NO расширению коронарных сосудов. Плохо понимаемым остается механизм вазоконстрикторного действия "ловушки" супероксид-аниона тирона, вводимого в коронарное сосудистое русло на фоне блокатора синтеза простагландинов диклофенака. Можно предположить, что противоположная по сравнению с контролем реакция коронарных сосудов на введение тирона после диклофенака может быть обусловлена **зависимостью действия тирона от исходного тонуса сосудов сердца.**

В нормальных условиях вазодилататорный потенциал сосудистой эндотелия, главным образом, создаваемый NO и эндотелиальным фактором гиперполяризации, чрезвычайно велик. В связи с этим после устранения вазоконстрикторных простагландинов NO достаточно для значительного расширения сосудов сердца. На фоне существующей дилатации, увеличение биодоступного NO, высвобождающегося при улавливании супероксид-аниона тироном не в состоянии реализовать свое вазодилататорное действие.

Данный факт подтверждается развитием наблюдаемого нами вазодилататорного эффекта тирона, на фоне блокады синтеза NO и простагландинов. При этом тонус сосудов возрастает, (сосуды сужены) и улавливание тироном супероксид-аниона приводит к уменьшению одного из вазоконстрикторов (супероксид-аниона), эффект которого может зависеть не только от их взаимодействия с постоянно образующимся из L-аргинина NO, но и при посредстве NO, высвобождающегося из его депонированных форм (S-нитрозотиолы и динитрозильные комплексы железа). Кроме того, улавливание супероксид-аниона устраняет его окислительное действие на сульфгидрильные группы регуляторных белков (Na-K-АТФазы, Са-АТФазы и других

редокс-чувствительных молекул), принимающих участие в развитии сократительного ответа гладкой мышцы.

Таким образом, вазоактивный эффект супероксид-аниона, образующегося в клетках стенки коронарных сосудов, зависит от уровня образования и баланса веществ, обладающих вазоконстрикторными и вазодилаторными свойствами, и конечно же, от исходного тонуса коронарных сосудов.

*Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, договор Б03-240.*

#### *Литература*

1. Новикова Е.Б. Об ауторегуляции в коронарной системе. Физиол. журнал. №1 : 61-74.1972.
2. Солодков А.П., Дорошенко А.С., Шебеко В.И., Щербинин И.Ю. Эндотелий, ауторегуляция коронарных сосудов и стресс // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – Минск, 2005. -№1. – С.84-99.
3. Шебеко В.И., Дорошенко А.С., Солодков А.П., Манухина Е.Б., Цвирко И.А., Ванин А.Ф. Редокс-регуляция депонирования оксида азота в сердечно-сосудистой системе // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2004. – Т.3, №4. – С.8-16.
4. Abe J-i., Berk B. C. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. Trends Cardiovasc. Med. 8 : 59-64. 1998.
5. Coleman H.A., Tare M., Parkington H. C. Endothelium-dependent depolarization and its implications for endothelium-derived hyperpolarizing factor // EDHF 2002.- Edited by Paul M. Vanhoutte.-Taylor & Francis, 2003.- P.199-205.

### **РОЛЬ СУПЕРОКСИД-АНИОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ И СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА ПРИ СТРЕССЕ И ВВЕДЕНИИ N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА.**

**Дорошенко А.С., Солодков А.П., Шебеко В.И.**

***УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет», Центральная  
научно-исследовательская лаборатория, Беларусь***

Длительное и интенсивное психоэмоциональное или физическое напряжение – это наиболее распространенная причина стрессовых реакций, сопровождающихся нарушением коронарного кровообращения [1].